UNIVERSITE DE PARIS VII
FACULTE DE MEDECINE XAVIER-BICHAT

Année 1976

N° 13

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

Catherine HERMABESSIERE

Née le 6 novembre 1949 à Saint-Denis (Seine)

Présentée et soutenue publiquement le

LA METHEMOGLOBINEMIE CONGENITALE RECESSIVE

A PROPOS D'UN CAS

Président de Thèse : Monsieur H. MATHIEU (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir-Delavigne
PARIS - 6e
1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548118_0017

UNIVERSITE DE PARIS VII
FACULTE DE MEDECINE XAVIER-BICHAT

Année 1976 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

Catherine HERMABESSIERE

Née le 6 novembre 1949 à Saint-Denis (Seine)

Présentée et soutenue publiquement le

LA METHEMOGLOBINEMIE CONGENITALE RECESSIVE

A PROPOS D'UN CAS

Président de Thèse : Monsieur H. MATHIEU (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir-Delavigne
PARIS - 6e
1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur H. MATHIEU

qui a bien voulu me faire l'honneur
d'accepter la présidence de cette
thèse.

A Monsieur le Professeur Agrégé B. LEVEQUE

qui m'a fait l'honneur de me confier
le sujet de cette thèse.

A Monsieur le Professeur Agrégé J.C. KAPLAN

En témoignage de ma reconnaissance
pour l'aide précieuse qu'il m'a
apportée au cours de mon travail.

LA METHEMOGLOBINEMIE CONGENITALE RECESSIVE

A PROPOS D'UN CAS.

-:-

S O M M A I R E

-:-

- INTRODUCTION 7

- RAPPELS BIOCHIMIQUES 9
  1. Le métabolisme intra-érythrocytaire du glucose 9
  2. La méthémoglobine 10
  3. Les diaphorases érythrocytaires 10
  4. Particularités de la méthémoglobinémie du nouveau-né et du nourrisson. 15

- HISTORIQUE DE LA METHEMOGLOBINEMIE CONGENITALE RECESSIVE 16

- OBSERVATION CLINIQUE 21

- LES ETAPES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE 30
  1. Matériel et méthodes utilisés 30
  2. Résultats 33

- DISCUSSION 38
  1. Aspect clinique 38
  2. Aspect biologique 40

- CONCLUSIONS 47

- BIBLIOGRAPHIE 49

I N T R O D U C T I O N

-:-

La méthémoglobinémie congénitale récessive est une affection métabolique due au déficit congénital homozygote en NADH-diaphorase. Cette enzyme, dont le coenzyme est le NADH produit au cours de la glycolyse anaérobie, intervient dans les processus normaux de réduction de la méthémoglobine en hémoglobine.

Les études biochimiques récentes (30, 35, 39, 40), tendent à montrer qu'il existe deux formes de méthémoglobinémie congénitale par déficit enzymatique, dont l'explication moléculaire reste à trouver :

- une forme bénigne, dans laquelle le déficit enzymatique n'intéresse que les globules rouges. Cliniquement, cette forme se traduit par une cyanose chronique, isolée, bien tolérée, apparue dès la naissance, tendant à s'atténuer avec l'âge.

- une forme grave, associant à la cyanose, une atteinte neurologique sévère, à type d'encéphalopathie athétosique, d'évolution progressive, dans laquelle le déficit enzymatique serait étendu à d'autres cellules que les globules rouges, ce qui pose la question de la distribution ubiquitaire de la NADH-diaphorase et de sa signification physiologique.

La méthémoglobinémie congénitale récessive, en tant qu'enzymopathie génotypique, est à distinguer des hémoglobinoses "M" et des méthémoglobinémies acquises. Les hémoglobinoses "M" sont des méthémoglobinémies congénitales, à transmission autoso-

mique dominante, elles sont dues à une anomalie structurale au niveau de la globine, affectant les acides aminés proches de l'hème dans la chaine α ou β de la globine, bloquant sous forme oxydée l'atome de fer. Les méthémoglobinémies acquises sont d'origine toxique : intoxications par des agents oxydants dépassant les possibilités réductrices des processus normaux de réduction de la méthémoglobine en hémoglobine.

Nous présentons une observation clinique et biochimique de méthémoglobinémie congénitale récessive, sans atteinte neurologique. Ce cas nous a paru intéressant à double titre, du fait, d'une part de la précocité du diagnostic concernant une affection rare, et, d'autre part, de l'intérêt qu'il suscite dans le domaine de la pathologie biochimique génétique.

Le diagnostic clinique fut porté dans le service de Monsieur le Professeur LEVEQUE, à l'Hôpital BRETONNEAU, alors que l'enfant était âgé de dix-sept jours.

L'étude biochimique a été réalisée à l'Institut de Pathologie Moléculaire, au Centre Universitaire Cochin, par Monsieur le Professeur KAPLAN.

Pour la clarté de l'exposé, après un rappel biochimique et un historique comportant les acquisitions récentes de la pathologie moléculaire concernant cette affection, l'observation sera présentée en trois chapitres : l'observation clinique proprement dite, les étapes du diagnostic biologique, et la discussion.

R A P P E L S B I O C H I M I Q U E S

-:-

1. Le métabolisme intra-érythrocytaire du glucose :

Le métabolisme intra-érythrocytaire du glucose est générateur de nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit (NADH) et de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit (NADPH).

En effet :

Dans une première étape, le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P) par une hexokinase.

Puis 90 % du G6P emprunte la voie de la glycolyse anaérobie selon le schéma d'Embden-Meyerhof, qui comporte une seule étape oxydative, la deshydrogénation du 3-phosphoglycéraldéhyde (3PG) avec formation de NADH. L'enzyme qui catalyse la réaction est la 3-phosphoglycéraldéhyde deshydrogénase (3PGD).

10 % du G6P emprunte la voie des pentoses phosphates qui comporte deux étapes oxydatives : la déshydrogénation du G6P et celle de l'acide 6-phospho-gluconique (6PG) avec formation de NADPH dans les deux cas. Les enzymes qui catalysent ces réactions sont la glucose-6-phosphate deshydrogénase (G6PD) et la 6-phospho-gluconate-deshydrogénase (6PGD).

Dans le globule rouge, en l'absence de chaîne respiratoire mitochondriale, la réoxydation des coenzymes réduits, NADH et NADPH, produits au cours du métabolisme intra-érythrocytaire du

glucose, se fait par transfert d'hydrogène sur différents substrats : pour le NADH essentiellement sur le pyruvate avec formation de lactate ; pour le NADPH, essentiellement sur le glutathion oxydé (GSSG) avec formation de glutathion réduit (GSH).

2. La méthémoglobine

La méthémoglobine est une forme oxydée de l'hémoglobine où le fer est à l'état ferrique (Fe^{+++}) impropre à jouer son rôle de transporteur de l'oxygène moléculaire car il prend avec une molécule d'eau une liaison stable au niveau de la sixième valence de coordination du fer.

Pour que l'hémoglobine puisse fonctionner comme transporteur d'oxygène, il est indispensable que son fer soit à l'état ferreux (Fe^{++}).

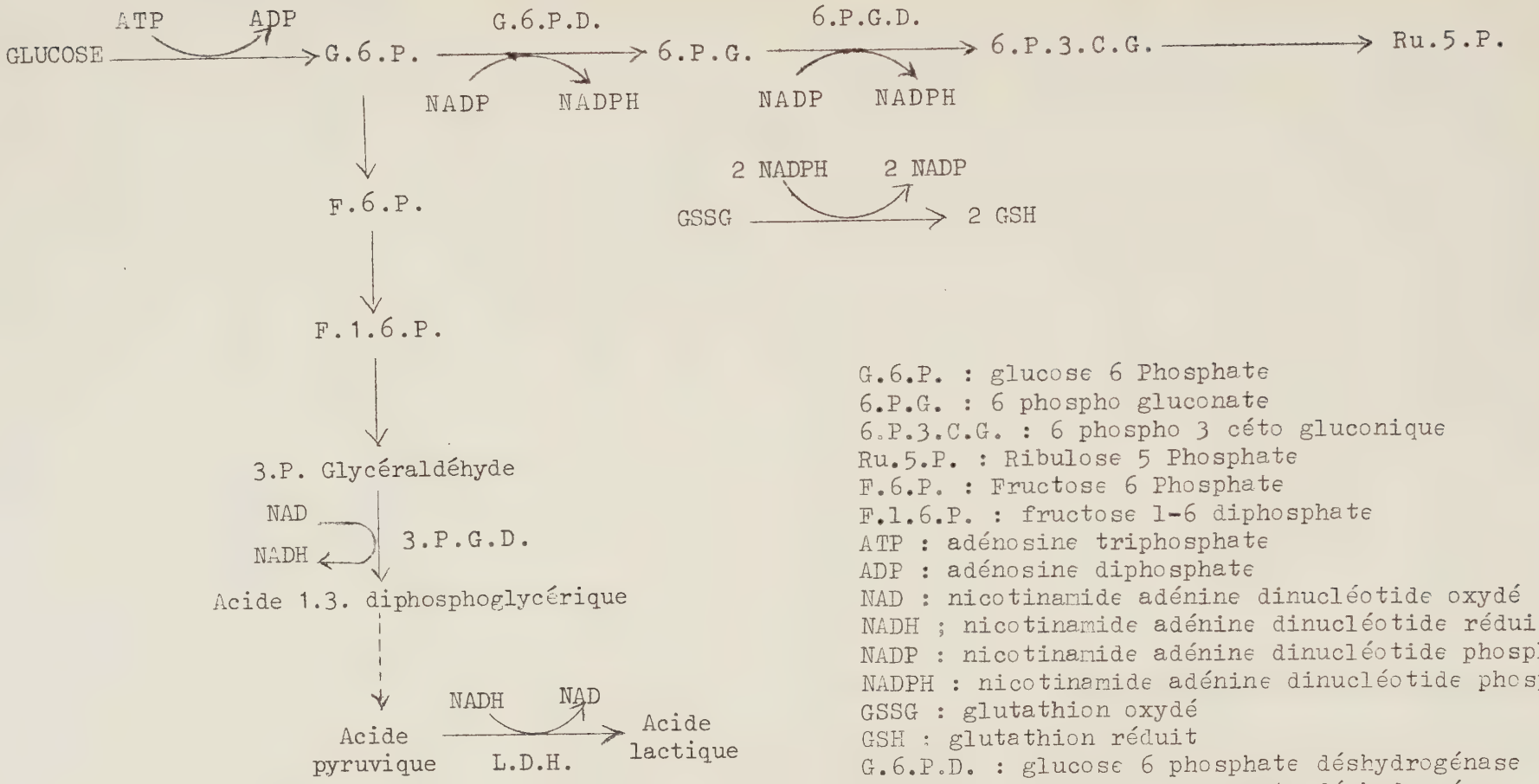
La méthémoglobine se forme continuellement in vivo à un taux de 0,5 à 3 % de l'hémoglobine totale. Cette méthémoglobinisation spontanée, de mécanisme mal connu, est équilibrée en permanence par l'action d'un système réducteur qui comporte les diaphorases érythrocytaires, l'acide ascorbique et le glutathion réduit.

3. Les diaphorases érythrocytaires.

Ce sont des enzymes capables in vitro de transférer l'hydrogène du NADH et du NADPH produits au cours du métabolisme intra-érythrocytaire du glucose sur un accepteur d'électron non spécifique comme le 2,6-dichlorophénolindophénol (DCIP) ou le bleu de méthylène.

METABOLISME INTRA-ERYTHROCYTAIRE DU GLUCOSE

FORMATION ET UTILISATION DES COENZYMES NADH & NADPH



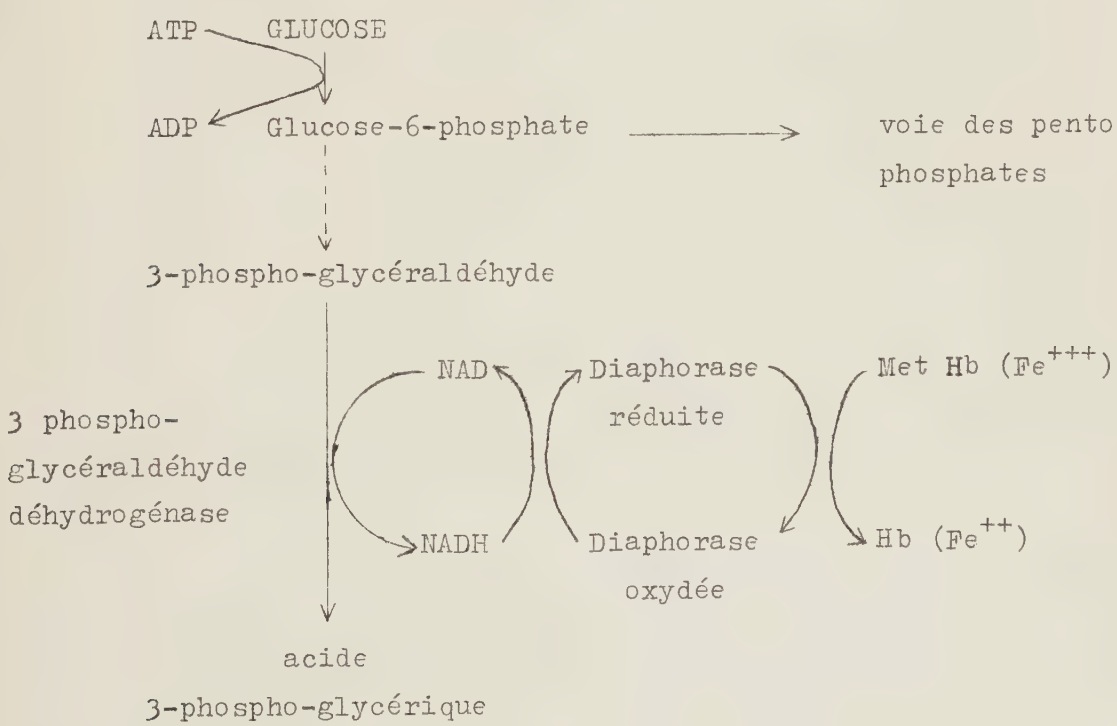
G.6.P. : glucose 6 Phosphate
6.P.G. : 6 phospho gluconate
6.P.3.C.G. : 6 phospho 3 céto gluconique
Ru.5.P. : Ribulose 5 Phosphate
F.6.P. : Fructose 6 Phosphate
F.1.6.P. : fructose 1-6 diphosphate
ATP : adénosine triphosphate
ADP : adénosine diphosphate
NAD : nicotinamide adénine dinucléotide oxydé
NADH ; nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé
NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
GSSG : glutathion oxydé
GSH : glutathion réduit
G.6.P.D. : glucose 6 phosphate déshydrogénase
G.P.G.D. : 6 phospho gluconate déshydrogénase
L.D.H. : lactico déshydrogénase
3.P.G.D. : 3 phospho glycéraldéhyde déshydrogénase
G : Glucose

Les enzymes qui in vivo réalisent le transfert d'électron sur la méthémoglobine sont des diaphorases. On les appelle encore NADH et NADPH deshydrogénases ou méthémoglobine réductases à NADH et NADPH (26).

A) La NADH diaphorase

La NADH diaphorase est la seule à jouer un rôle physiologique. Scott et coll. (55 et 57) l'ont isolée et purifiée des globules rouges humains : il s'agit d'une flavoprotéine. Elle intervient normalement dans la réduction de la méthémoglobine dont elle maintient un taux physiologique normal à un niveau inférieur à 1 % de l'hémoglobine totale.

Son déficit caractérise la méthémoglobinémie congénitale récessive (53). La conséquence du déficit enzymatique est une diminution de la capacité de transport de l'oxygène des globules rouges sans modification de leur viabilité.



Réduction de la méthémoglobine par la voie physiologique de la diaphorase à NADH (Kaplan)

B) La NADPH diaphorase

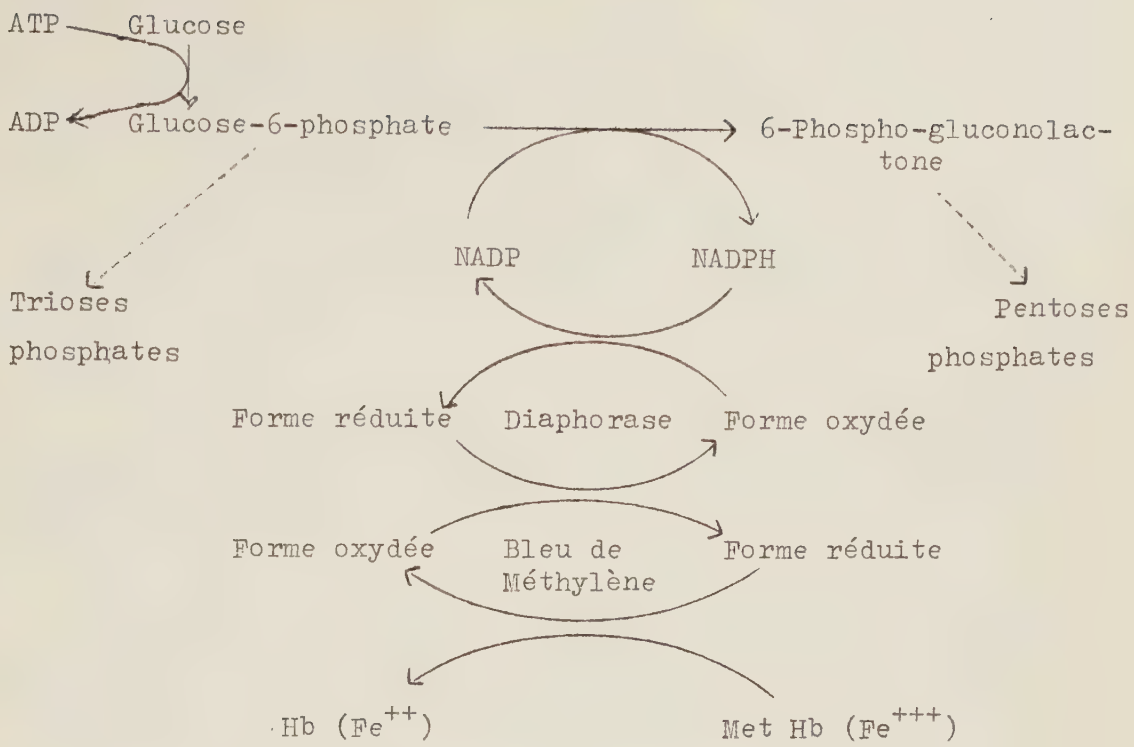
La NADPH diaphorase ne peut fonctionner qu'en présence d'un intermédiaire d'oxydo-réduction comme le bleu de méthylène. Il est donc inapproprié de l'appeler méthémoglobine réductase à NADPH, puisqu'en l'absence de cofacteur naturel remplaçant le bleu de méthylène la NADPH diaphorase apparaît comme un système enzymatique non fonctionnel in vivo : la NADPH diaphorase n'a aucun rôle physiologique (6, 16, 57)

La nature exacte de l'enzyme n'est pas connue et sa signification biologique demeure encore mystérieuse.

Cependant,si elle est dépourvue d'activité physiologique, la NADPH diaphorase explique l'effet thérapeutique du bleu de méthylène dans la méthémoglobinémie enzymoprive de même que dans les méthémoglobinémies toxiques : le bleu de méthylène administré per os ou par voie intraveineuse agit comme activateur de la voie des pentoses par la réoxydation du NADPH qu'il entraîne, et permet la réduction rapide de la méthémoglobine en hémoglobine (18, 19, 38). Dans la séquence de transfert électronique entre NADPH et accepteur final (méthémoglobine ou oxygène) le bleu de méthylène s'intercale selon toute vraisemblance entre la diaphorase et l'accepteur final d'électron (4, 50, 51). Ce schéma résulte de deux données expérimentales :

1) le bleu de méthylène réduit est capable de réduire directement et rapidement la méthémoglobine sans intervention enzymatique, de même qu'il est capable de se réoxyder au contact de l'oxygène (4, 24).

2) Sass et coll. ont montré que les globules rouges normaux accumulent le bleu de méthylène réduit, alors que les globules rouges déficients en NADPH diaphorase en sont incapables (50, 51).



Réduction de la méthémoglobine par la diaphorase à NADPH en présence de bleu de méthylène (Kaplan).

C) A l'action des diaphorases érythrocytaires, il faut ajouter la réduction directe, non enzymatique, de la méthémoglobine en hémoglobine, due :

1) à l'acide ascorbique, qui est alors oxydé en acide deshydroascorbique. Il s'agit d'une réaction relativement lente, ce qui explique son effet thérapeutique retardé.

2) au glutathion réduit, dont l'action est mal connue. La transformation du glutathion oxydé en glutathion réduit est catalysée par la glutathion réductase dont le coenzyme est le NADPH.

4. Particularités de la méthémoglobinémie du nouveau-né et du nourrisson.

Chez le nouveau-né et le nourrisson, le taux de méthémoglobine est plus élevé que chez le grand enfant et l'adulte du fait :

1) de la prédominance jusqu'à l'âge de trois mois de l'hémoglobine foetale qui serait plus oxydable que l'hémoglobine adulte (1, 2).

2) de l'immaturité des systèmes enzymatiques qui fait que le taux de la NADH diaphorase du nouveau-né à terme est d'environ la moitié de la normale adulte (49).

Ce qui explique :

1) la sensibilité du nourrisson aux agents toxiques méthémoglobinisants (37).

2) La description de méthémoglobinémie congénitale transitoire chez le prématuré (44).

HISTORIQUE DE LA METHEMOGLOBINEMIE CONGENITALE RECESSIVE

-:-

Ce n'est qu'en 1930, quand commença l'étude spectroscopique du sang des sujets atteints de cyanose que fut établie la distinction entre cyanose par malformation cardiaque ou trouble pulmonaire, et méthémoglobinémies (48).

Dès lors, commença le démembrement du syndrome "méthémoglobinémie". On reconnut des méthémoglobinémies accidentelles toxiques acquises et des méthémoglobinémies congénitales.

C'est Gibson, qui en 1948 (10), individualisa le cadre nosologique de la méthémoglobinémie congénitale récessive du cadre des méthémoglobinémies congénitales, en formulant l'hypothèse du rôle physiologique d'une enzyme NADH dépendante dans le phénomène de réduction in vivo de la méthémoglobine. Il attribue, alors, certains cas de méthémoglobinémie congénitale à un déficit en cette enzyme.

En 1959, Scott et Griffith (53) confirment l'hypothèse de Gibson en montrant que les globules rouges des sujets atteints de méthémoglobinémie congénitale récessive étaient dépourvus de l'activité NADH diaphorasique normalement présente dans les érythrocytes des sujets sains.

En 1960, Scott apporte la preuve de la transmission autosomique récessive de la maladie : dans une étude portant sur des familles entières d'Indiens d'Alaska et d'Esquimaux, il

montre que l'activité NADH diaphorasique est diminuée d'environ 50 % chez les parents d'enfants méthémoglobinémiques alors que le déficit chez ces enfants est pratiquement total (54).

Depuis, les études génétiques ont démontré de façon certaine la transmission autosomique récessive de la tare (28, 35, 43).

En 1964, Jaffé, dans sa revue générale, dénombre 150 cas publiés de méthémoglobinémie congénitale par déficit enzymatique (19).

En 1967, Kaplan et Beutler, élaborent une technique de révélation spécifique des NADH et NADPH diaphorases après électrophorèse sur gel d'amidon (27). Cette technique a permis de montrer :

1) que les systèmes NADH et NADPH dépendants étaient bien distincts (31).

2) que les sujets atteints de méthémoglobinémie congénitale récessive présentaient des modifications du profil électrophorétique de la NADH diaphorase.

Depuis 1967, l'étude électrophorétique de la NADH diaphorase érythrocytaire de sujets atteints de méthémoglobinémie congénitale récessive a montré trois types de modification électrophorétique (29, 32) :

1) Tantôt l'enzyme est complètement absente
2) Tantôt, l'enzyme est réduite à l'état de traces, ayant conservé une mobilité normale.
3) Tantôt, l'enzyme est décelable sous forme d'une bande ayant une mobilité électrophorétique modifiée.

Ces résultats indiquent que l'anomalie génétique porte sur un gène de structure et est hétérogène.

En 1974, huit variants étaient décrits à partir de leur propriété électrophorétique. Ils sont regroupés dans le tableau ci-après, emprunté à Kaplan (34).

Variant	Origine	Mobilité (% de la normale)	Activité enzymatique résiduelle dans le G.R.(% de la normale)
California (Kaplan et Beutler, 1967) (27)	Européenne	133	25
"ma" (West et coll.1967, West 1972) (58,59)	?	lent	10
Boston lent (Bloom et Zarkowsky, 1969) (5)	Irlandais	90	35
Duarte (Hsieh et Jaffe, 1971) (15)	Anglais	108	12
Puerto Rico (Hsieh et Jaffe, 1971) (15)	Porto Ricaine	117	6-23
Beni Messous (Kaplan et coll. 1974) (35)	Algérienne	109	0
Grenoble (Kaplan et coll. non publiée)	Bohémienne	115	1
La Tronche (Kaplan et coll. non publiée)	Française	110	1

Tableau I.- Variants électrophorétiques de la NADH diaphorase dans la méthémoglobinémie congénitale récessive

En 1970, Kaplan, Leroux et Dreyfus (30) étudiant un sujet présentant une méthémoglobinémie congénitale avec arriération mentale et signes neurologiques (cas décrit par Heusden et coll. (13)) constatent chez ce sujet un déficit en NADH diaphorase non seulement dans les globules rouges mais aussi dans les globules blancs. En revanche, chez un malade atteint de la forme bénigne de méthémoglobinémie congénitale, sans signes neurologiques, il n'y avait pas de déficit enzymatique. leucocytaire.

Ils avancent alors l'hypothèse d'une corrélation entre l'extension du déficit aux autres cellules que le globule rouge et l'existence d'une sévère atteinte cérébrale dont la fréquence est anormalement élevée dans la méthémoglobinémie enzymoprive (9, 13, 30).

Depuis 1970, l'étude systématique de la NADH diaphorase érythrocytaire et leucocytaire chez les sujets atteints de méthémoglobinémie congénitale récessive a permis de vérifier cette hypothèse (35, 42).

En 1972, Leroux et Kaplan fournissent la preuve immunologique et électrophorétique de la présence de cette même NADH diaphorase des globules rouges, dans les leucocytes, les plaquettes, le cerveau, le placenta, le muscle et le foie, posant la question de la signification physiologique de la présence de cette enzyme dans les cellules autres que le globule rouge (39).

Dans le même temps, Hulquist et Passon (17) postulent l'hypothèse que la réduction enzymatique physiologique de la méthémoglobine ferait intervenir le système cytochrome b_5 - cytochrome b_5 réductase, qu'ils mettent ensuite en évidence dans les globules rouges humains normaux (45).

En 1973, Leroux et Kaplan (40), puis en 1975, Leroux et coll. (42) donnent la preuve du déficit en cytochrome b_5 réductase dans la méthémoglobinémie congénitale récessive : dans la forme sans syndrome neurologique, le déficit en cytochrome b_5 réductase est limité aux globules rouges ; dans la forme avec syndrome neurologique, le déficit en cytochrome b_5 réductase est généralisé (41).

La constatation du déficit concomittant en NADH diaphorase et en cytochrome b_5 réductase plaide en faveur d'une identité des deux enzymes.

En 1975, 260 cas environ de méthémoglobinémie congénitale récessive ont été publiés (23). La proportion de la forme maligne avec sévère atteinte neurologique est d'environ 10 %.

La répartition géographique de la maladie est vaste, puisque elle a été retrouvée en Amérique, en Asie, en Europe (19, 20, 38, 52), avec semble-t-il une prédominence de la forme maligne pour les sujets d'origine méditerranéenne (36).

O B S E R V A T I O N C L I N I Q U E

-:-

Pascal B... de sexe masculin, est né le 10 mai 1974, au terme d'une grossesse normale. L'accouchement, en clinique, s'est déroulé normalement, l'enfant a crié dès l'expulsion, son poids de naissance est de 3610 g, sa taille de 50 cm, son périmètre crânien de 33 cm. D'emblée, une cyanose est remarquée puisque traitée par oxygène sans efficacité pendant une demi heure.

P. est mis à l'allaitement artificiel ; il ne reçoit aucune médication et sort de maternité au 8e jour de vie.

Au 17e jour de vie, P. est adressé à l'hôpital Bretonneau, dans le service du Professeur Levèque, car les parents de P. s'inquiètent du teint cyanosé de leur enfant, s'accentuant au moment des biberons qu'il prend mal. Par ailleurs, P. présente, depuis sa sortie de maternité quelques selles molles pour lesquelles il n'a pas été mis au régime diététique à la carotte et n'a reçu aucune médication.

A l'examen d'entrée, le 17e jour de vie, P. pèse 3900 g et mesure 55 cm. On est frappé par l'existence d'une cyanose, qui est diffuse, particulièrement nette au niveau des lèvres, des lobes de l'oreille, des lunules des ongles, de tonalité grisâtre, permanente, insensible à l'administration d'oxygène. Cette cyanose contraste avec l'excellente tolérance clinique. En effet :

1) L'examen clinique général est normal :
Respiration normale ; auscultation des champs pulmonaires normale.
Bruits du coeur bien frappés, réguliers, avec une fréquence cardiaque à 110 battements par minute. Il n'y a pas de souffle audible. Les pouls fémoraux sont perçus, symétriques. Le temps de recoloration est normal. Il n'y a pas d'hépatomégalie. Il n'y a pas d'hippocratisme digital. L'examen neurologique et le développement psycho-moteur sont normaux pour l'âge.
Il n'y a pas de malformation congénitale apparente.

2) Les premiers examens complémentaires n'apportent aucune précision supplémentaire :

- Numération formule sanguine :
  GR : 4.240.000 / mm3
  Hb : 13,8 g/l
  Hte: 42 %
  VGM : 100 μ^3
  TGMH : 33 $\gamma\gamma$
  CCMH : 33 %
  GB : 13.100 / mm3
  neutrophiles : 41 %
  lymphocytes : 57 %

- Electrocardiogramme normal.

- Radiographie thoracique normale :
  transparence pulmonaire normale
  indice cardio-thoracique à 0,51

- Gaz du sang, après ponction de l'artère radiale :

	Pascal	Normale
PH	: 7,34	7,40 $\pm$ 0,02
PAO_2	: 38 mm Hg	80 $\pm$ 10 mm Hg
$PAco_2$	: 32 mm Hg	40 $\pm$ 2 mm Hg
CO_3H	: 23 mEq/l	26 $\pm$ 2 mEq/l

Les résultats des gaz du sang trouvés chez Pascal le jour de son admission dans le service peuvent être considérés comme étant à la limite inférieure de la normale. En effet :

- P. a crié pendant la prise de sang, ce qui a pu entraîner, du fait de l'augmentation des résistances artérielles pulmonaires dues aux cris, une réouverture du foramen ovale, avec réapparition du shunt droit-gauche. Ceci explique la chute de la PAo_2 à 38 mm Hg.

- L'acidose métabolique mineure (PH : 7,34), peut s'expliquer par l'hypoxie secondaire entraînée par la méthémoglobinémie.

- L'hypocapnie ($PAco_2$: 32 mm Hg), est compensatrice de l'acidose métabolique.

Devant les résultats des examens biologiques spécifiques et l'évolution favorable sous traitement, le contrôle des gaz du sang ne sera pas demandé.

Ainsi les données de l'examen clinique, jointes aux résultats des premiers examens complémentaires, permettent d'éliminer une maladie respiratoire et une cardiopathie cyanogène.

3) Le diagnostic de méthémoglobinémie est suspecté sur :

- l'aspect brunâtre du sang noté lors de la ponction de l'artère radiale en vue de l'étude des gaz du sang.

- Les caractéristiques de la cyanose, et en particulier sa parfaite tolérance clinique.

Il est confirmé par la découverte d'un taux de méthémoglobinémie à 19 % le 18e jour de la vie.

4) L'étiologie congénitale récessive de la méthémoglobinémie est suspectée sur :

- Le résultat du test thérapeutique au bleu de méthylène : après injection intra-veineuse de 8 mg de bleu de méthylène (soit 2 mg/kg), l'enfant a rosi en quelques minutes.

- L'absence de cause toxique retrouvée à l'interrogatoire minutieux des parents. Les principaux agents méthémoglobinisants sont regroupés dans le tableau II (8). Aucun d'entre eux n'a été retrouvé chez P. : les biberons étaient préparés à partir d'eau minérale contrôlée ; P. n'a pas été mis au traitement diététique à la soupe de carottes ; et n'a pas subi d'agression par les toxiques méthémoglobinisants d'origine médicamenteuse ou autre.

L'étiologie congénitale récessive de la méthémoglobinémie sera confirmée par les résultats des examens biologiques spécifiques (cf. chapitre suivant).

5) Evolution sous traitement :

Dès lors, P. est soumis à un traitement continu par l'acide ascorbique, à la dose initiale de 300 mg par jour.

Il quitte l'hôpital Bretonneau le 12 juin 1974. Il est depuis suivi régulièrement à la consultation du service du Professeur Lévèque, où l'on note que son développement, tant

staturo - pondéral que psycho-moteur est normal :

- Le développement staturo-pondéral est indiqué sur la courbe de croissance somatique ; P. se situe à + 1 déviation standard . Son développement est harmonieux.

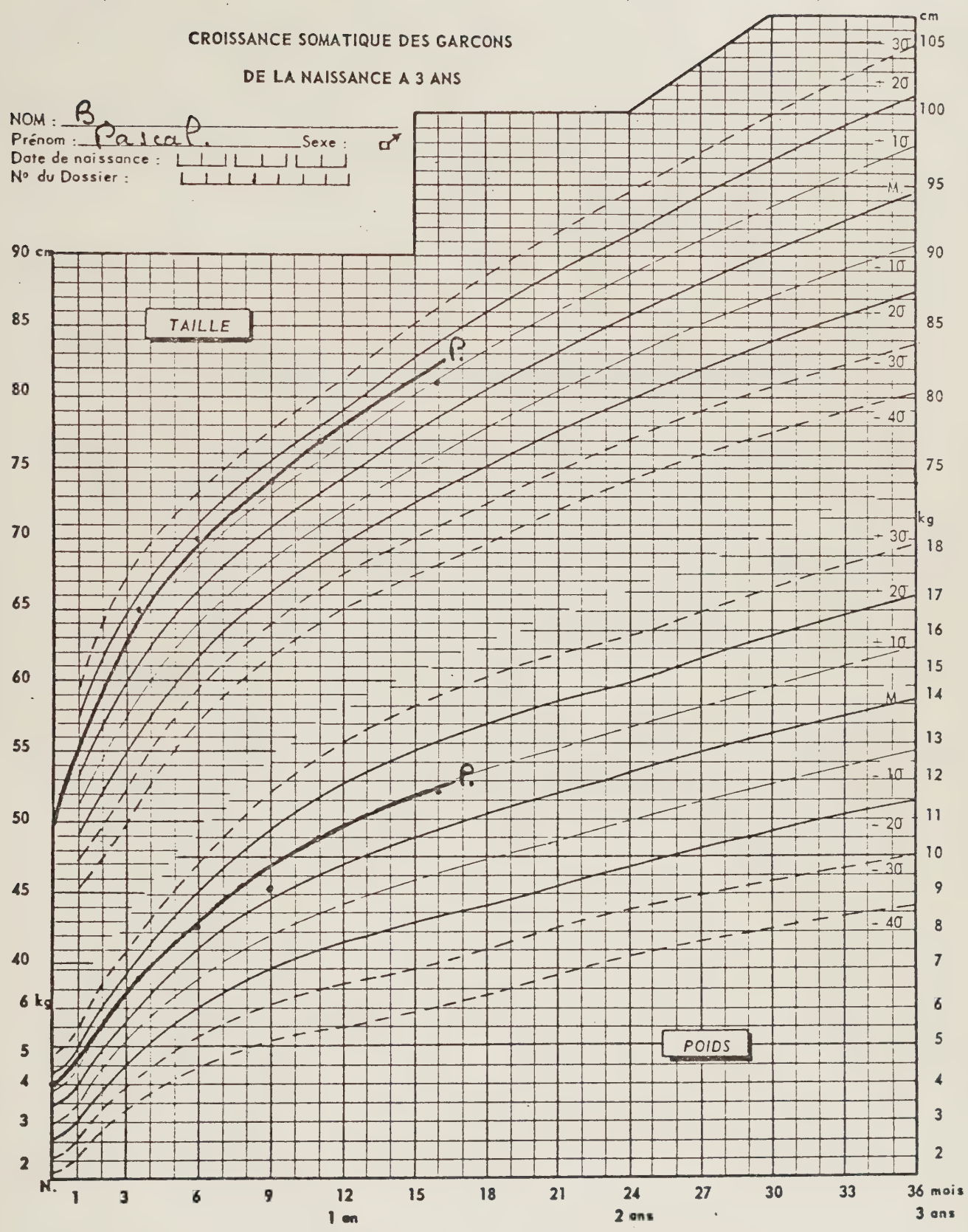
- Sur le plan psycho-moteur et neurologique, le développement de P. est également satisfaisant, puisqu'à 16 mois, lors de la consultation de septembre 1975, il présentait toutes les acquisitions propres à cet âge.

- Actuellement, P. ne reçoit plus que 90 mg par jour d'acide ascorbique, ce qui suffit à contrôler la cyanose.

PRINCIPAUX AGENTS METHEMOGLOBINISANTS. TABLEAU II

INTOXICATIONS D'ORIGINE MEDICAMENTEUSE	INTOXICATIONS D'ORIGINE PROFESSIONNELLE	INTOXICATIONS D'ORIGINE ALIMENTAIRE
Nitrates : nitrate d'ammonium sous nitrate de bismuth Nitrites Chlorate de Potassium Permanganate de Potassium Phénacétine Acétilanide Phénylhydrazine Anesthésiques locaux : benzocaïne prilocaïne PAS Dinitriphénol Polyphénols Pyridione Sulfones Sulfamides Primaquine	Nitrites Chlorates Ferricyanure de Potassium Aniline et dérivés Trichlorocarbanilide Paranitraniline Phénylhydrazine Toluidine et xylidine Nitro et dinitro-benzène Mono et dinitriphénol Dérivés nitrés de Toluène Nitroglycérine Nitro-cellulose Naphtaline et dérivés Para dichlorobenzène Polyphénols	Nitrites : saumures Nitrates : eaux polluées épinards cultivés industriellement soupe de carottes nitrate de sodium Nitrobenzine (Pâtisserie) essence de mirbane

etim 679/16



Etude semi-longitudinale - Dr. M. SEMPE et G. PEDRON - Paris 1967

H I S T O I R E F A M I L I A L E

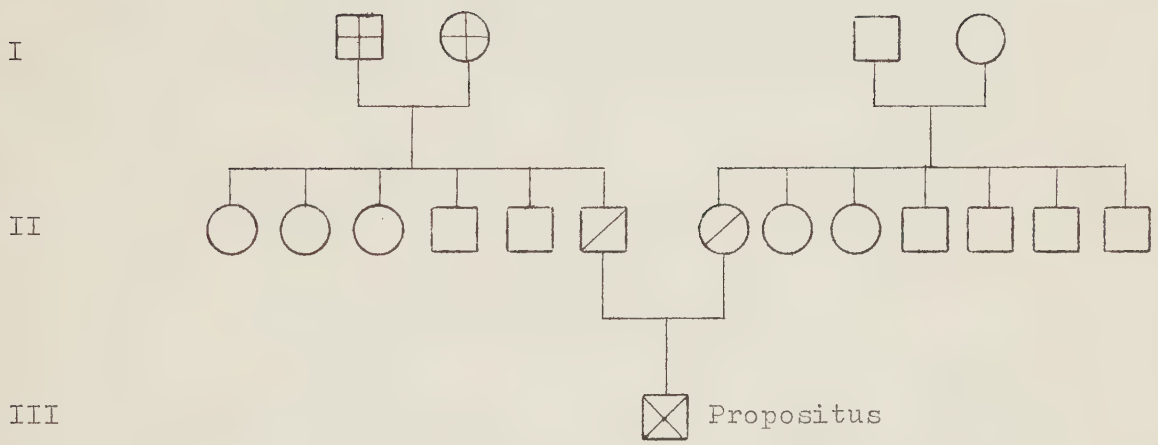
-:-

- Le propositus est enfant unique, né de parents sains.

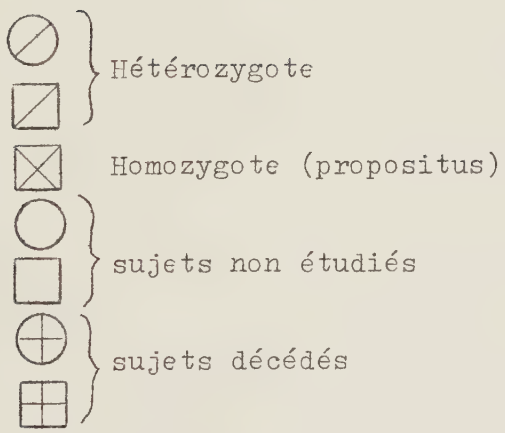
- L'étude généalogique ne révèle aucune consanguinité chez ses parents.

- Le père et les grands-parents paternels du propositus sont originaires des Charentes. Le père du propositus, de même que l'un des frères du père, aurait présenté des épisodes de cyanose durant la petite enfance.

- La mère du propositus est née à Paris, de père Tunisien, né à Tunis, de mère d'origine Italienne, née à Tunis. Elle a deux frères et quatre soeurs, tous bien portants.



Généalogie de Pascal



Seuls ont pu être étudiés le propositus et ses deux parents.

LES ETAPES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

-:-

Tous les dosages successifs, chez l'enfant et ses proches ont été effectués à l'Institut de Pathologie Moléculaire, au Centre Universitaire Cochin (Professeur J.C. Kaplan).

1. Matériel et méthodes utilisés

A) Dosage de la méthémoglobine :

La méthémoglobine a été dosée selon la méthode de Kaplan après enregistrement au spectre des hémolysats dilués dans un tampon phosphate 0,1M, pH 7,1 sur un spectrophotomètre enregistreur à double faisceau Beckman (modèle Acta III). La méthode est basée sur la comparaison entre l'absorption à deux longueurs d'onde caractéristiques : 525 mμ (où l'absorption est identique, à des concentrations égales, pour l'oxyhémoglobine et la méthémoglobine = point isobestique) et 578 mμ (longueur d'onde où la différence d'absorption est la plus grande). Le rapport $\frac{\text{D.O. 578 mμ}}{\text{D.O. 525 mμ}}$ varie linéairement en fonction des proportions respectives de méthémoglobine et d'oxyhémoglobine. Il permet, grâce à une abaque, de déterminer d'emblée le taux de méthémoglobine exprimé en pourcentage de l'hémoglobine totale (25).

B) Dosage de l'hémoglobine :

Le dosage de l'hémoglobine a été pratiqué par la méthode de la cyanméthémoglobine (60).

C) Dosage de l'activité NADH-diaphorasique :

La méthode utilisée est celle de Hegesh et coll. (12) qui utilise le complexe ferrocyanure-méthémoglobine comme accepteur final d'électrons. Le milieu réactionnel contient, pour I ml, 5 µ moles de tampon citrate de sodium pH 4,7, 0,5 µmole d'EDTA, 0,1 µ mole de ferricyanure de potassium, 18 µmoles d'hémoglobine débarrassée de diaphorase par trois passages sur résine DEAE-cellulose et l'équivalent de 2,5 µ l de globules rouges. La réduction de la méthémoglobine est déclenchée par l'addition de 0,15 µ mole de NADH, et la réaction est suivie par l'augmentation de densité optique à 578 nm sur un photomètre enregistreur Eppendorf (modèle 1101 M) à 37º C. Les résultats sont exprimés en µ moles de substrat (complexe ferrocyanure-méthémoglobine) réduites par minute et par gramme d'hémoglobine pour les dosages effectués à partir d'hémolysats, ou par gramme de protéines pour les autres dosages.

D) Electrophorèse en gel d'amidon de la NADH-diaphorase :

La méthode utilisée est celle de Kaplan et Beutler (27).

Les échantillons soumis à l'électrophorèse sont des hémolysats préparés par congélation-décongélation répétée. La migration en gel d'amidon, en tampon Tris 45 mM, EDTA 1 mM, acide borique 20 mM, pH 8,6 (14), s'effectue horizontalement en plaques de 21 cm x 13 cm, à 4º C, pendant 5 heures sous 450 volts.

La NADH-diaphorase est révélée par le milieu suivant : NADH 1,3 mM, bromure de 3(4,5-diméthylthiazolyl-2), 2,5-diphényl tétrazolium (MTT), 1,2 mM et 2,6-dichlorophénol-indophénol 0,06 mM dans un tampon Tris 0,25 M, pH 8,4 (27,35).

E) Préparation des leucocytes et des leucolysats (35) :

Les leucocytes sont préparés par sédimentation du sang total hépariné additionné de polyvinyl-pyrrolidone à 20 % (1 volume pour 4 volumes de sang total). Le plasma enrichi en plaquettes et leucocytes est ensuite centrifugé à 600 g pendant 10 minutes. Puis le culot cellulaire est soumis à un choc osmotique par l'eau bidistillée pendant 30 secondes. Le culot de cellules est ensuite lavé trois fois avec du chlorure de sodium isotonique, puis conservé à -20º C. Les extraits leucocytaires sont obtenus après congélation-décongélation répétée du culot leucocytaire suivie d'une homogénéisation au Potter avec un volume de tampon Tris 60 mM, pH 7,55, EDTA 3 mM. Les dosages de méthémoglobine réductase sont effectués dans le surnageant 30 000 x g.

F) Préparation des extraits érythrocytaires deshémoglobinisés (35) :

L'hémolysat destromatisé par centrifugation est ajusté à pH 7,0 avec un tampon phosphate de potassium 5 mM, puis mis au contact pendant 90 minutes avec une résine échangeuse d'anion (DEAE-cellulose type DE-52) équilibrée avec le même tampon, à raison de 10 g de résine pour 4 ml de globules rouges. La préparation est ensuite transférée dans une fiole de Büchner et l'hémoglobine est éliminée par plusieurs lavages avec le tampon phosphate 5 mM, pH 7,0. Les enzymes adsorbées sur la résine sont enfin éluées par du KCL 0,3 M dans un tampon phosphate de potassium 50 mM, pH 5,8. L'éluat est précipité par le sulfate d'ammonium à 60 % de saturation. Après dissolution dans un tampon phosphate de potassium 10 mM, pH 7,5, l'activité de la méthémoglobine réductase est mesurée et rapportée, d'une part à la quantité de protéines exprimée en mg, et d'autre part à l'activité d'une enzyme témoin, la 6-phosphogluconate deshydrogénase dosée selon Beutler (3).

G) Le dosage de l'activité cytochrome b_5-réductase.

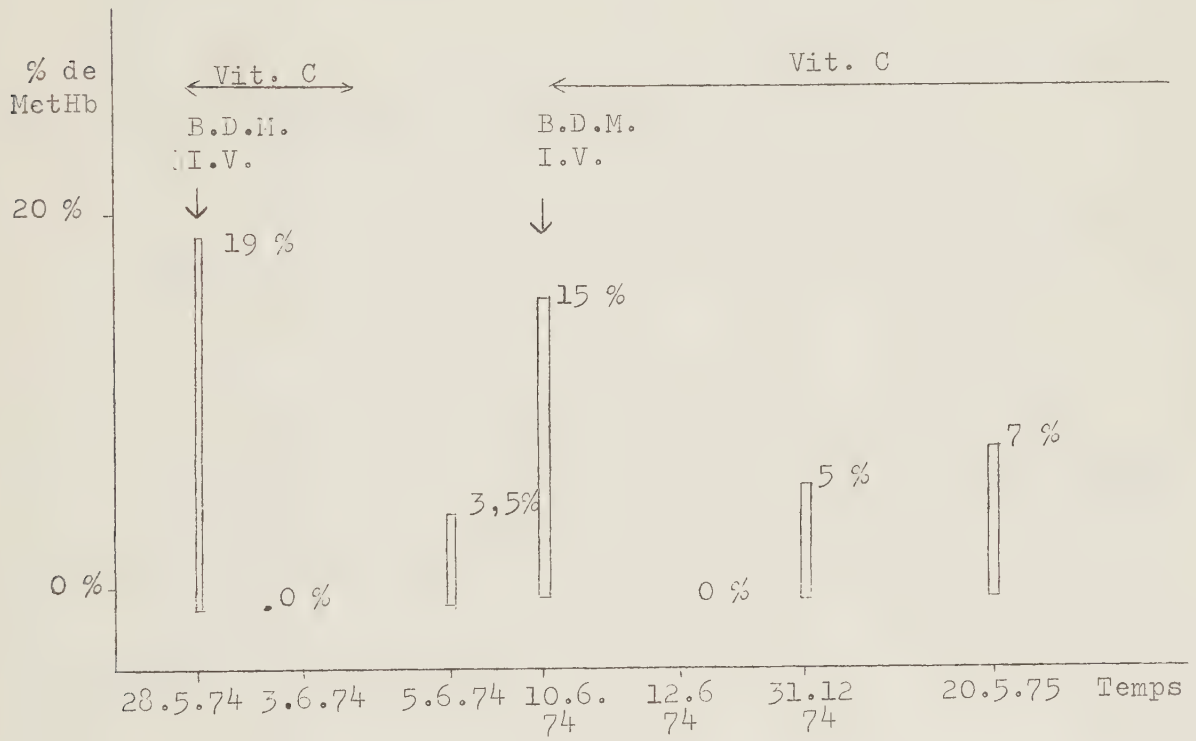
n'a pas été pratiqué.

II. Résultats.

A) Dosage de la méthémoglobine

Chez Pascal, le taux sanguin de méthémoglobine était de 19 % le 18e jour de vie, avant l'injection de bleu de méthylène. La méthémoglobinocytémie se traduit, sur le plan clinique, par une cyanose lorsque son taux sanguin atteint 15 % à 40 % de l'hémoglobine totale, 40 % étant un maximum qui ne peut être dépassé pour des raisons physico-chimiques (29).

L'évolution du taux sanguin de méthémoglobine chez P. est exprimée ci-dessous :



Ce diagramme montre que le taux de méthémoglobinémie, qui était de 0 % le lendemain de la première injection de bleu de méthylène, est remonté spontanément à 3,5 % puis à 15 %, après interruption du traitement continu par l'acide ascorbique, ce qui représentait un argument diagnostique supplémentaire en faveur de la méthémoglobinémie congénitale par déficit enzymatique. Après une nouvelle injection de bleu de méthylène (le 10.6.1974), et sous traitement continu à l'acide ascorbique, le taux se stabilise à 5 %, 7 %.

B) Etude de l'hémoglobine

Chez P., le spectre de l'hémoglobine étudiée sous ses différentes formes (oxy Hb, désoxy Hb, métHb, et cyanmét Hb) est strictement normale. Cette donnée, alliée aux résultats normaux de l'étude électrophorétique de l'hémoglobine, a permis d'écarter le diagnostic de méthémoglobinémie par hémoglobinopathie de type "M".

C) Etude de l'activité NADH diaphorasique

L'activité NADH diaphorasique a été mesurée dans les érythrocytes et les leucocytes chez le propositus, ainsi que chez le père et la mère du propositus.

a) Dans les érythrocytes

Les résultats des deux dosages effectués à trois mois d'intervalle sont reportés dans le tableau-cidessous. Chez le propositus, un troisième dosage a été effectué.

Sujet	Activité µ moles / mn / g Hb		
	10.6.74	29.9.74	10.5.75
Pascal	0,06	0,5	0,42
Père	1,5	2,38	
Mère	2,2	2,89	
taux normaux : Normale adulte $\geqslant 3,3 \pm 0,5$			
Normale nouveau-né $\geqslant 1,5 \pm 0,5$			

Tableau III. Activité NADH diaphorasique érythrocytaire chez le propositus, le père et la mère du propositus. Dosages selon Hegesh.

Ces résultats confirment le diagnostic de méthémoglobinémie congénitale par déficit enzymatique chez Pascal, qui présente un taux d'homozygote pour le déficit.

Le père de Pascal a un taux d'hétérozygote. La mère également mais, à deux reprises, le taux retrouvé était plus élevé que celui de son mari.

Chez Pascal, la semi purification de l'enzyme érythrocytaire a permis d'obtenir une préparation d'activité spécifique égale à 10 % de celle d'une enzyme témoin. L'activité spécifique a été mesurée en faisant le rapport NADH-diaphorase / 6-phosphogluconate deshydrogénase.

b) dans les leucocytes

Les dosages ont été faits après conservation du culot leucocytaire à -20º C pendant six mois.

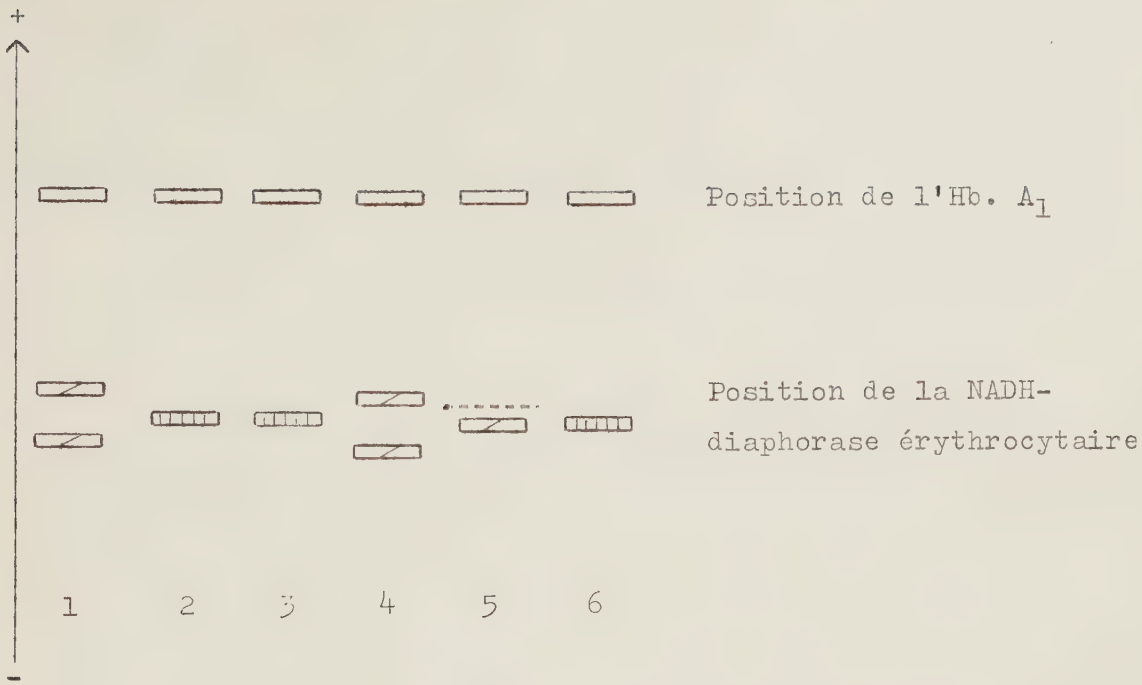
Les résultats du dosage de l'activité NADH-diaphorasique des leucocytes sont normaux chez le propositus et ses parents :

Pascal	16,8 U / g de protéines
Père	14,3 U / g de protéines
Mère	12,5 U / g de protéines
Normale	10 à 20 U / g de protéines

D) Electrophorèse de la NADH-diaphorase érythrocytaire.

Normalement, la NADH diaphorase érythrocytaire se présente comme une bande unique de mobilité électrophorétique identique à l'hémoglobine A_2 à pH 8,6 (27).

L'electrophorèse de la NADH diaphorase érythrocytaire du propositus et de ses deux parents a été faite deux fois ; en juin et en septembre 1974, et a montré les deux fois la même anomalie électrophorétique : le propositus présente deux bandes l'une plus lente, l'autre plus rapide que l'allèle normal ; Chez le père du propositus, outre la bande normale, il semble exister des traces d'enzyme à l'emplacement de la bande rapide ; Chez la mère du propositus, on ne voit rien d'autre que la bande normale.



1 Propositus
2 Témoin normal
3 Mère
4 Propositus
5 Père
6 Témoin normal

Electrophorèse de la NADH-diaphorase érythrocytaire du propositus et de ses deux parents.

D I S C U S S I O N

-:-

L'intérêt de cette observation réside essentiellement dans la précocité du diagnostic et dans les données biochimiques qui ont été recueillies.

1. Aspect clinique :

L'affection se présente chez notre malade sous la forme monosymptomatique d'une cyanose, apparue dès la naissance, en dehors de toute agression par des agents méthémoglobinisants, généralisée, prédominant aux lèvres, sans manifestation cardio-vasculaire ou pulmonaire associée, insensible à l'oxygénothérapie et remarquablement tolérée. Ultérieurement, aucun retentissement secondaire n'a été constaté et l'enfant se développe normalement.

Ce tableau est caractéristique de la méthémoglobinémie congénitale récessive, décrite par Scott et coll. (52), et par Jaffe et Coll. (19,20). La cyanose résume le plus souvent à elle seule toute la symptomatologie clinique de l'affection et ne se manifeste spontanément que chez les sujets homozygotes pour le déficit. La cyanose apparaît pour des taux de méthémoglobinémie situés entre 10 % et 40 % de l'hémoglobine totale.

Le préjudice de l'affection est uniquement d'ordre esthétique et la cyanose est aisément contrôlée par l'emploi d'un transporteur artificiel d'électron qui ouvre la voie de la NADPH-

diaphorase, comme le bleu de méthylène (51) utilisé soit per os, à la dose de 100 à 300 mg par jour, soit par voie intraveineuse à la dose de 1 à 2 mg/kg voie qui ne se justifie que si l'on désire un effet rapide. L'acide ascorbique per os, utilisé à la dose initiale de 300 à 500 mg par jour est moins efficace mais peut suffire dans nombre de cas (23,28).

La tolérance de l'affection est excellente et selon l'expression de Jaffe "The patients are more blue than sick" (23). Les sujets atteints ont une activité normale, et l'un d'entre eux est même capable de se livrer à des sports violents tels l'alpinisme ou la plongée sous-marine (36). Ce n'est qu'exceptionnellement que l'on note une mauvaise tolérance, avec des signes d'anoxie à type d'asthénie, de vertiges, de céphalées, de dyspnée, et un hippocratisme digital, comme c'est le cas pour un sujet homozygote récemment étudié par Mast et coll. (43).

Le pronostic est bon : la cyanose tend à s'atténuer avec l'âge, surtout après la puberté. La croissance, l'intelligence, de même que la longévité des sujets atteints ne sont pas affectés (23, 28).

Toutefois, dans une proportion significative de cas, 10 % au moins (23), à la cyanose s'associe une sévère atteinte neurologique entraînant la mort dans la première ou la deuxième enfance. Les données de la littérature concernant ce problème se limitent aux observations de Fialkow et coll. (9), Heusden et coll. (13), Jaffe et coll. (21, 23), et Kaplan et coll. (30, 35, 40, 42).

L'observation de Fialkow et coll. (9), concerne trois sujets homozygotes dont deux avec arriération mentale, d'une même famille où l'association des deux anomalies, méthémoglobi-

némie enzymoprive et arriération mentale, semble fortuite, puisque ces symptômes ségrègent indépendamment.

Il ressort des observations de Heusden et coll. (13), Jaffé et coll. (21, 23) et Kaplan et coll. (30, 35, 40, 42), que l'atteinte neurologique revêt une allure assez stéréotypée d'athétose double constituée vers l'âge de six mois. Le tableau clinique comprend habituellement : une hypertonie de type extra-pyramidale, des mouvements anormaux athétosiques, une microcéphalie, un strabisme convergent, et un retard psychomoteur manifeste. Le dépistage précoce de l'atteinte neurologique est difficile, du fait de son caractère progressivement évolutif (36).

La pathogénie des signes neurologiques et de l'arriération mentale est restée longtemps inexpliquée : l'anoxie in utéro ne semble pas en cause car il n'existe aucune corrélation entre le degré de méthémoglobinémie néo-natale, et l'existence ou l'absence de symptômes neurologiques (13, 35). L'anoxie cérébrale par diminution du pouvoir oxyphorique des globules rouges ne semble pas non plus devoir être invoquée (35). Les travaux biochimiques actuels confirment l'hypothèse d'une différence biologique fondamentale entre les formes avec et sans atteinte neurologique (30, 35, 39, 40, 42), que nous explicitons au chapitre suivant consacré à l'aspect biologique.

2) Aspect biologique

L'affection se caractérise chez notre malade par l'existence d'un déficit majeur mais non absolu en diaphorase érythrocytaire à NADH, puisque l'on trouve des traces d'enzyme au dosage, et qu'à l'électrophorèse ces traces ont une mobilité anormale.

a) Le dosage de l'activité NADH diaphorasique érythrocytaire, par la méthode de Hegesh (12) a montré une activité enzymatique résiduelle faible à 0,5 U / g Hb, soit environ 10 % de la normale. Dans d'autres observations, le taux de l'activité résiduelle érythrocytaire varie entre 10 % et 35 % (5, 15, 27, 58, 59), parfois même, elle a été trouvée nulle (35, 43) ou très faible, comme dans le cas des variantes Grenoble et La Tronche (34),dont l'activité enzymatique résiduelle est de 1 %.

Il semble que l'activité enzymatique résiduelle ne soit pas un critère de distinction entre les formes avec et sans atteinte neurologique, puisque, si des taux nuls en diaphorase érythrocytaire ont été observés avec une plus grande fréquence chez des sujets atteints de la forme maligne (35, 40), ils ont également été observés dans la forme sans atteinte neurologique (43). Le taux d'activité enzymatique résiduelle serait fonction de l'instabilité de l'enzyme mutée, instabilité qui se manifeste in vivo par une destruction accélérée de l'enzyme, et in vitro par l'absence d'activité résiduelle empêchant toute caractérisation de l'enzyme mutée (35).

Chez notre malade, les propriétés fonctionnelles et biochimiques de l'enzyme résiduelle n'ont pas été étudiées. De toute manière cette étude est sujette à caution dans la mesure où, comme nous le verrons, notre malade est très vraisemblablement doublement hétérozygote.

L'étude de l'activité enzymatique résiduelle érythrocytaire des parents de notre patient a montré une activité enzymatique diminuée se situant dans la zone où une hétérozygotie pour le déficit est hautement probable. Les hétérozygotes, dont l'activité diaphorasique est diminuée, ne sont pas méthémoglobinémiques, mais peut etre plus susceptibles que les sujets

normaux aux poisons méthémoglobinisants (46, 47).

On doit noter que les leucocytes du propositus et de ses parents ont une activité NADH diaphorasique normale, ce qui est tout à fait en accord avec le fait que l'enfant ne présente pas d'atteinte neurologique.

Kaplan et Leroux ont trouvé chez cinq enfants qui présentaient une méthémoglobinémie congénitale récessive avec atteinte neurologique sévère, un déficit enzymatique généralisé (30, 35, 40, 42), alors que chez neuf autres sujets atteints de l'affection sans manifestation neurologique associée, le déficit enzymatique reste localisé aux globules rouges (30, 34, 36, 40, 43).

La conception du déficit généralisé de l'enzyme dans la forme avec sévère atteinte neurologique (30) est en accord avec la mise en évidence de la répartition ubiquitaire de l'enzyme (39) et l'hypothèse d'une identité entre NADH-diaphorase et cytochrome b_5-réductase (30, 42), qui au niveau cellulaire interviendrait dans la chaine microsomiale de transport des électrons, et qui agirait au niveau des globules rouges comme une méthémoglobine réductase (17, 35, 42).

Chez notre malade, l'activité cytochrome b_5-réductase, érythrocytaire et leucocytaire, n'a pas été dosée.

b) L'interprétation de l'anomalie électrophorétique constatée est difficile. L'électrophorèse a mis en évidence l'existence chez le propositus de deux bandes électrophorétiques anormales, l'une plus lente, l'autre plus rapide que l'allèle normal . Chez le père, outre la bande normale, il semble exister des traces d'enzyme à l'emplacement de la bande rapide. Chez la mère, on ne voit rien d'autre que la bande normale.

Comme l'atteste l'anomalie électrophorétique, il s'agit d'un variant structural. Par rapport aux variants électrophorétiques publiés antérieurement, (Tab. I, et réf. 5, 15, 27, 34, 35, 58, 59), ce malade ne correspond à aucun des cas déjà décrits, qui ne montraient qu'une seule bande électrophorétique anormale, soit plus rapide que l'allèle normal pour les variantes California (27), Duarte (15), Puerto-Rico (15), Beni-Messous (35), Grenoble et La Tronche (34), soit plus lente que l'allèle normale pour les variantes "ma" (58, 59), et Boston lent (5).

Kaplan et Beutler (27) ont montré que chez la fille (hétérozygote obligatoire) d'un propositus homozygote, porteur de la variante électrophorétique rapide "California", on retrouvait deux bandes électrophorétiques correspondant l'une à l'allèle normal, l'autre à l'allèle California.

Dans notre observation, du fait de la non consanguinité des parents, il est improbable que l'enfant soit homozygote pour un seul allèle anormal. Il est plus vraisemblablement doublement hétérozygote. Cependant, si les deux bandes observées chez le propositus représentent chacune un allèle anormal, il faut remarquer que l'allèle à migration lente n'est retrouvé chez aucun des parents, seul l'allèle à migration rapide est peut être visible chez le père.

On peut tenter d'expliquer l'aspect observé en tenant compte des deux notions suivantes :

- Une caractéristique majeure de l'allèle anormal serait sa grande instabilité (7), qui expliquerait qu'il ne soit pas décelable électrophorétiquement chez les hétérozygotes (35).

- Il existe, au cours du vieillissement in vitro d'hémo-

lysats de sujets normaux comme de sujets atteints de méthémoglobinémie congénitale enzymoprive, une transformation secondaire in vitro, responsable d'un phénomène de multiplication des bandes électrophorétiques de la NADH diaphorase érythrocytaire (14, 31).

Tenant compte de ces deux notions, on peut avancer l'hypothèse que le père du propositus a transmis un allèle anormal à vieillissement accéléré et que la mère du propositus a transmis un allèle électrophorétiquement silencieux, du fait sans doute de sa grande instabilité. Dans cette hypothèse, les deux bandes visibles chez le fils seraient, la forme native (lente) et vieillie (rapide) de l'allèle transmis par le père. Cependant, on ne voit pas les deux bandes anormales chez le père, mais seulement la bande rapide.

Si l'aspect électrophorétique ne trouve pas d'explication, il permet néanmoins d'éliminer l'hypothèse d'une structure dimérique homologue de l'enzyme, et montre qu'une structure dimérique hétérologue n'est compatible que si la mutation siège sur la même chaîne pour les deux parents. En effet, admettant comme hypothèse de travail que l'enfant est double hétérozygote pour deux allèles différents :

a) Si l'enzyme normale a une structure dimérique homologue de type $\alpha\alpha$, le père ayant un génotype $\alpha\alpha/\alpha\alpha'$, la mère $\alpha\alpha/\alpha\alpha''$, on devrait trouver chez le fils plusieurs recombinants visibles à l'électrophorèse, en particulier la bande normale $\alpha\alpha$, or l'électrophorèse ne montre que deux bandes anormales chez le fils. Donc, une structure de type $\alpha\alpha$ est incompatible avec l'aspect électrophorétique observé.

Père / Mère	αα	αα'
αα	αα.αα	αα.αα'
αα''	αα.αα''	αα'.αα''

Recombinants

	α	α'
α	αα	αα'
α''	αα''	α'α''

b) Si l'enzyme normal a une structure hétérologue de type αβ :

- Si le génotype du père est αβ/α'β et le génotype de la mère αβ/αβ', c'est à dire, si la mutation siège sur deux chaines différentes, les mêmes conclusions que dans l'éventualité précédente s'imposent : on aurait chez le fils au moins trois bandes dont la bande normale αβ.

Père / Mère	αβ	α'β
αβ	αβ.αβ	αβ.α'β
αβ'	αβ.αβ'	α'β.αβ'

Recombinants

	α'	β
α	αα'	αβ
β'	α'β'	ββ'

- Si le génotype du père est αβ/α'β et le génotype de la mère αβ/α''β, c'est à dire, si la mutation siège sur la chaine α pour les deux parents, la structure dimérique hétérologue serait compatible avec l'aspect électrophorétique du fils.

Père / Mère	αβ	α'β
αβ	αβ.αβ	αβ.α'β
α''β	αβ.α''β	α'β.α''β

Recombinants

	α'	β
α''	α'α''	α''β
β	α'β	ββ

Cependant, cette hypothèse d'une structure dimérique hétérologue de l'enzyme normale n'explique pas l'absence de bande anormale chez la mère, à moins d'admettre l'hypothèse déjà émise d'une grande instabilité et d'un vieillissement accéléré des allèles anormaux.

c) Si l'enzyme normal a une structure monomère de type α, le génotype du père étant α/α' et celui de la mère α/α'', on conçoit encore mal l'aspect obtenu à l'électrophorèse, à moins d'admettre la même hypothèse d'une grande instabilité et d'un vieillissement accéléré des allèles anormaux.

Donc, la structure de l'enzyme normale n'est probablement pas dimérique homologue. Elle peut être dimérique hétérologue ou monomère. Néanmoins, l'hypothèse d'une structure dimérique est peu compatible avec l'existence de seulement deux bandes chez le sujet hétérozygote pour le mutant California (27), comme le fait d'ailleurs remarquer H. Harris (II). Plus vraisemblablement, l'enzyme normale a une structure monomère de type α, ce qui, par ailleurs, est compatible avec son poids moléculaire d'environ 28.000.

C O N C L U S I O N S

-:-

L'étude de l'activité NADH-diaphorasique au niveau des globules rouges et des globules blancs, et de son type électrophorétique, représente un mode d'exploration privilégié des méthémoglobinémies congénitales enzymoprives.

Les résultats acquis chez notre malade permettent d'avancer l'hypothèse d'une structure monomère de l'enzyme normale, et montrent l'hétérogénéité biochimique de l'affection. Ils précisent aussi, en accord avec la symptomatologie clinique constatée, limitée à une cyanose isolée, que l'enfant est atteint de la forme bénigne de l'affection due à un déficit enzymatique en NADH-diaphorase limité aux globules rouges. Cette forme, sans atteinte neurologique, se caractérise par son bon pronostic et sa tolérance habituelle. La cyanose est aisément contrôlée par un traitement continu au bleu de méthylène ou à l'acide ascorbique.

On ne saurait trop insister sur la nécessité de penser à doser la méthémoglobinocytémie devant toute cyanose du nouveau-né et du nourrisson, ce qui permet d'éviter non seulement des erreurs diagnostiques, mais encore des gestes traumatisants (cathétérisme).

Vu
Le Président :
Signé : H. MATHIEU

Vu
Le Doyen :
Signé : J. BAUMANN

Vu et permis d'imprimer :
Le Président de l'Université PARIS VII
Signé : M. ALLIOT

BIBLIOGRAPHIE

-:-

1. BETKE (K.), GROESCHNER (E.), SCHALL (H.).
Empfindlichkeit von Hemoglobin A,S,C, und gegenuber Oxydation zu Methaemoglobin.
Proc. VIIth cong. Europ. soc. Hemat. London, 1959, Part II, 1073.

2. BETKE (K.), KLEINHAUER (E.), GARTNER (C.), SCHIEBE (G.).
Verminderrung von Methaemoglobin Reduktion. Diaphorase Aktivität und Flavinen im Erythrocyten junger Säuglingen.
Arch. Kinder., 1964, 170, 66.

3. BEUTLER (E.).
Red cell metabolism. A manual of biochemical methods.
Grune and Stratton, 1971, New York.

4. BEUTLER (E.), BALUDA (M.C.).
Methemoglobin reduction. Studies of the interaction between cell populations and of the role of methylene blue.
Blood, 1963, 22, 323.

5. BLOOM (G.E.), ZARKOWSKY (H.S.).
Heterogeneity of the enzymatic defect in congenital methemoglobinemia.
1969, New Engl. J. Med., 281, 919.

6. BRIN (M.), YONEMOTO (R.H.).
Stimulation of the glucose oxidative pathway in human erythrocytes by methylene blue.
1958, J. Biol. Chem., 230, 307.

7. DREYFUS (J.C.).
Bases moléculaires des maladies génétiques,
1972, Biochimie, 54, 559.

8. FAIVRE (M.), ARMAND (J.), FAIVRE (J.).
Les méthémoglobinémies toxiques. 1974, Masson éd.

9. FIALKOW (P.J.), BROWDER (J.A.), SPARKES (R.S.), MOTULSKY (A.G.
Mental retardation in methemoglobinemia due to diaphorase deficiency.
1965. New Engl. J. Med., 273, 840.

10. GIBSON (Q.P.).
The reduction of methemoglobin in red cells and studies on the cause of idiopathic methemoglobinémia.
1948. Biochim., 9, 42, 131.

11. HARRIS (H.).
The principles of human biochemical genetics.
P. 34, 1970, Galton Laboratory, University college,London.

12. HEGESH (E.), CALMANOVICI (N.), AVRON (M.).
New method for determining ferrihemoglobin reductases (NADH-methemoglobin reductase) in erythrocytes.
1968, J. Lab. Clin. Med., 72, 339.

13. HEUSDEN (A.), WILLEMS (C.), LAMBOTTE (C.), HAINAUT (H.), CHAPELLE (P.), MALCHAIR (R.).
Méthémoglobinémie héréditaire avec arriération mentale. Etude de trois nouveaux cas.
1971. Arch. Franç. Ped., 28, 631.

14. HOPKINSON (D.A.), CORNEY (G.), COOK (P.J.L.), ROBSON (E.B.) HARRIS (H.).
Genetically determined electrophoretic variants of human red cell NADH-diaphorase.
1970. Hum. Genet., 34, 1.

15. HSIEH (H.S.), JAFFE (E.R.).
Electrophoretic and functional variants of NADH methemoglobin reductase in hereditary methemoglobinemia.
1971. J. Clin. Invest. 50, 192.

16. HUENNEKENS (F.M.), CAFFREY (R.W.), BASFORD (R.E.), GABRIO(BW)
Erythrocyte metabolism IV. Isolation and properties of methemoglobin reductase.
1957. J. Biol. Chem., 227.

17. HULTQUIST (D.E.), PASSON (P.G.).
Catalysis of methaemoglobin reduction by erythrocyte cytochrome b_5 and cytochrome b_5 reductase.
1971. Nature, 229, 252.

18. JAFFE (E.R.).
Hereditary methemoglobinemias associated with abnormalities in the reduction of tetrazolium salt.
1954. Nature, 173, 774.

19. JAFFE (E.R.), HELLER (P.).
Methemoglobinemia in man. In MOORE (C.V.) and BROWN (E.B.) Progress in hematology, 1964, New York, Grune and Stratton Inc. 4, 48.

20. JAFFE (E.R.).
Hereditary methemoglobinemias associated with abnormalities in the metabolism of erythrocytes. 1966.
Amer. J. Med., 41, 786.

21. JAFFE (E.R.), NEUMANN (G.), ROTHBERG (H.), WILSON (F.T.), WEBSTER (R.M.), WOLFF (J.A.).
Hereditary methemoglobinemia with and without mental retardation. A study of three families.
1966. Amer. J. Med., 41, 42.

22. JAFFE (E.R.)
DPNH-methemoglobin reductase diaphorase. In Yunia J.J. Biochemical methods in red cell genetics.
1969. Academic press, New York, 1969, 231.

23. JAFFE (E.R.), HSIEH (H.S.).
DPNH methemoglobin reductase deficiency and hereditary methemoglobinemia.
1971. Semin. Hemat., 8, 417.

24. KAPLAN (J.C.), DREYFUS (J.C.), BESSIS (M.).
La structure en mosaïque du chromosome X chez la femme. Essai de démonstration microspectrophotométrique d'une double population de globules rouges chez les femmes hétérozygotes pour le déficit en glucose-6-phosphate deshydrogénase.
1965. Nouv. Rev. Franç., Hémat., 5, 835.

25. KAPLAN (J.C.).
Méthode de mesure rapide du taux de la méthémoglobine dans les globules rouges.
1965. Rev. Franç. et clin. biol., 10, 856.

26. KAPLAN (J.C.).
Les systèmes d'oxydo - réduction du globule rouge et leurs anomalies.
1966, Nouv. Rev. franç., hémat., 6, 809.

27. KAPLAN (J.C.), BEUTLER (E.).
Electrophoresis of red cell NADH and NADPH diaphorases in normal subjects and patients with congenital methemoglobinemia.
1967. Biochem. Biophys., Res. Communs, 29, 605.

28. KAPLAN (J.C.), LABIE (D.), SCHAPIRA (G.).
Les méthémoglobinémies.
1969. EMC Sang, 4, 13007.

29. KAPLAN (J.C.).
Diaphorases et glutathion reductase érythrocytaires.
1969. Exp. Ann. Bioch. Med., XIX, 79, Masson éd.

30. KAPLAN (J.C.), HANZLICKOVA-LEROUX (A.), DREYFUS (J.C.).
Etude de l'activité NADH diaphorasique des leucocytes dans la méthémoglobinémie congénitale récessive.
1970. C.R. Acad. Sci. Paris, Série D, 270, 22.

31. KAPLAN (J.C.), LEROUX (A.).
Les systèmes NADH et NADPH diaphorasiques des cellules sanguines humaines.
1970. Bull. Soc. Chim. Biol., 52, 11, 1243.

32. KAPLAN (J.C.).
Studies on NADPH and NADH diaphorases in blood cells from normal subjets and in congenital methemoglobinemia.
In B. RAMOT (ed.) : "Clinical aspects of red cell structure and metabolism". 1971, New York, Acad. Press, 125.

33. KAPLAN (J.C.).
Remarques sur les enzymopathies génétiques du globule rouge.
1972. Bioch., 54, 765.

34. KAPLAN (J.C.).
Defective molecular variants of G6P deshydrogenase and methemoglobin reductase.
1974. J. Clin. Path., 27, suppl. (Roy. Coll. Path.)8,134.

35. KAPLAN (J.C.), LEROUX (A.), BAKOURI (S.), GRAMGAUD (J.P.), BENABADJI (M.).
La lésion enzymatique dans la méthémoglobinémie congénitale récessive avec encéphalopathie. Description d'une nouvelle variante déficitaire de NADH diaphorase (Variante Beni-Messous).
1974. Nouv. Rev. Franç. Hem., 14, 6, 755.

36. KAPLAN (J.C.).
Communications personnelles.

37. LAMAGNIERE (J.P.), MERCIER (C.), LAUGIER (J.), GRENIER (B.) DESBUQUOIS (G.).
Les méthémoglobinémies acquises du nourrisson et de l'enfant.
1972. Ann. Péd., 19, 107.

38. LAMY (M.), FREZAL (J.), JAMMET (M.C.), JOSSO (N.).
La méthémoglobinémie congénitale récessive.
1963. Nouv. Rev. Franç., Hémat., 3, 105.

39. LEROUX (A.), KAPLAN (J.C.).
Presence of red cell type NADH methemoglobin reductase (NADH diaphorase) in human non erythroid cells
1972. Biochem. Biophy. Research com. 49, 4, 945.

40. LEROUX (A.), KAPLAN (J.C.).
Recent progress in enzymopenic congenital methemoglobinemia. Proc. VIIth Int. Berlin Symposium on Structure and Function of Erythrocytes, 1973. Akademic Verlag, Berlin.

41. LEROUX (A.), KAPLAN (J.C.).
Cytochrome b_5-reductase deficiency in recessive congenital methemoglobinemia. Proc. FEBS. Congress, Paris, juillet 1975.

42. LEROUX (A.), JUNIEN (C.), BAMBERGER (J.), KAPLAN (J.C.).
Generalised deficiency of cytochrome b_5-reductase in congenital methaemoglobinemia with mental retardation.
1975. Nature (sous presse).

43. MAST (A.), MILO (R.), JUNIEN (C.), LEROUX (A.), KRISHNAMOORTHY (R.), WAJCMAN (H.), LABIE (D.), KAPLAN (J.C.).
Congenital enzymopenic methemoglobinemia : clinical and biochemical study of a family with three homozygotes.
1975. Acta hematologica (sous presse).

44. NOBRE (R.), CRUMIERE (C.), MARBOUTOU (R.), COLIN (J.).
La méthémoglobinémie transitoire du prématuré.
1974. Ann. Péd., 21, 6, 7, 531.

45. PASSON (P.G.), HULTQUIST (D.E.).
Soluble cytochrome b_5 reductase from human erythrocytes.
1972. Bioch. Biophy. Acta, 275, 62.

46. RICHARD (J.), MOINET (J.), CHEVALIER (V.).
Etat actuel des connaissances sur les méthémoglobinémies congénitales. A propos d'une observation.
1966. Ann. Péd., 13, 627.

47. RICHARD (J.).
Les Méthémoglobinémies.
1968. Rev. Prat. 18, 4463.

48. ROSA (J.), SCHAPIRA (G.).
Les méthémoglobinémies par anomalie de structure de la globine, ou hémoglobinose "M".
1966 Sem. Hôp. Paris, 42, 2004.

49. ROSS (J.D.), DESFORGES (J.F.).
Reduction of methemoglobin by erythrocytes from cord blood.
1959. Pediatrics, 23, 9718.

50.SASS (M.D.), CARUSO (C.J.), AXELROD (B.R.).
Accumulation of methylene blue by metabolizing erythrocytes.
1967. J. Lab. Clin. Med., 69, 447.

51. SASS (M.D.), CARUSO (C.J.), FARHAUGI (M.).
TPNH methemoglobin reductase deficiency : a new red cell enzyme defect.
1967. J. Lab. Clin. Med., 70, 760.

52. SCOTT (E.M.), HOSKINS (B.D.).
Hereditary methaemoglobinemia in Alaska Eskimos and Indians.
1958. Blood, 13, 795.

53. SCOTT (E.M.), GRIFFITH (I.V.).
The enzymic defect of hereditary methaemoglobinemia : diaphorase.
1959. Biochem. Biophy. Acta, 34, 584.

54. SCOTT (E.M.).
The relation of diaphorase of human erythrocytes to inheritance of methemoglobinemia.
1960. J. Clin. Invest., 39, 1176.

55. SCOTT (E.M.), Mc GRAW (J.C.).
Purification and properties of diphosphopyridine nucleotide diaphorase of human erythrocytes.
1962. J. Biol. Chem., 237, 249.

56. SCOTT (E.M.).
Purification of diphosphopyridine nucleotide diaphorase from methemoglobinemic erythrocytes.
1962. Biochem. Biophy. Res. Commun., 9, 59.

57. SCOTT (E.M.), DUNCAN (I.W.), EKSTRAND (V.)
The reduced pyridine nucleotide deshydrogenases of human erythrocytes. 1965. J. Biol. Chem. 240 481.

58. WEST (C.A.), GOMPERTS (B.D.), HUEHNS (E.R.), KESSEL (I.), ASHBY (J.R.).
Demonstration of an enzyme variant in a case of congenital methemoglobinemia.
1967, Brit. Med. J., 4, 212.

59. WEST (C.A.).
A study of the inheritance and properties of an electrophoretic variant of NADH methemoglobin reductase associated with congenital methemoglobinemia.
1972. Brit. J. Haemat., 23, 343.

60. ZIJLSTRA (W.G.), VON KAMPEN (E.J.).
Standardization of the hemoglobinometry : the hemoglobinocyamid method.
1961. Clin. Chim. Acta 6, 538.

-:-